不同厌氧碱化处理对鲜麦秸营养成分、超微结构和体外发酵参数的影响

刘培剑[1] 曹玉芳[1] 朱风华[1] 葛 蔚[1] 程 明[2] 林英庭[1*]

（1.青岛农业大学动物科技学院，青岛 266109；2.青岛市畜牧兽医研究所，青岛 266000）

摘 要：本试验旨在研究不同厌氧碱化处理对鲜麦秸营养成分、超微结构和体外发酵参数的影响。将鲜麦秸分别用干物质重量的2.5%碳酸氢钠（碳酸氢钠组）、4%尿素（尿素组）、2.5%碳酸氢钠+4%尿素（复合组）厌氧处理40 d，分析其营养成分和扫描电镜下超微结构的变化；以3头安装有永久性瘤胃瘘管的健康崂山奶山羊为瘤胃液供体，通过体外产气技术进行48 h体外发酵试验，测定处理后麦秸的体外降解率、产气量及发酵参数。结果表明：1)复合组粗蛋白质（CP）含量极显著高于碳酸氢钠组和尿素组（$P<0.01$），尿素组极显著高于碳酸氢钠组（$P<0.01$）；复合组中性洗涤纤维（NDF）含量显著低于碳酸氢钠组（$P<0.05$），与尿素组差异不显著（$P>0.05$）；复合组半纤维素（HCEL）含量极显著低于碳酸氢钠组（$P<0.01$），与尿素组差异不显著（$P>0.05$）；3个组之间酸性洗涤纤维(ADF)含量差异不显著（$P>0.05$）。2）扫描电镜下，不同厌氧碱化处理对麦秸结构的破坏程度表现为复合组>尿素组>碳酸氢钠组，碱液对麦秸组织的侵蚀力度表现为厚壁细胞>薄壁细胞>维管束。3）复合组干物质降解率（DMD）极显著高于碳酸氢钠组（$P<0.01$），复合组中性洗涤纤维降解率（NDFD）、酸性洗涤纤维降解率（ADFD）均显著高于碳酸氢钠组（$P<0.05$）；复合组DMD、NDFD、ADFD均高于尿素组，但差异不显著（$P>0.05$）。复合组48 h体外产气量及乙酸、丙酸、丁酸和总挥发性脂肪酸（TVFA）的产量均显著或极显著高于碳酸氢钠组（$P<0.01$或$P<0.05$）；复合组乙酸产量显著高于尿素组（$P<0.05$），氨态氮产量显著低于碳酸氢钠组和尿素组（$P<0.05$）；3个组之间pH、乙酸/丙酸均差异不显著（$P>0.05$）。综上所述，2.5%碳酸氢钠+4%尿素复合厌氧处理效果优于碳酸氢钠、尿素单独处理，增加了麦秸CP含量，降低了NDF、HCEL的含量，提高了秸

收稿日期：2018-01-05

基金项目：山东省现代农业产业技术体系羊产业创新团队（SDAIT-10-04）

作者简介：刘培剑（1990—），男，山东安丘人，硕士研究生，研究方向为反刍动物营养与饲料科学。E-mail: 634588407@qq.com

*通信作者：林英庭，教授，研究生导师，E-mail: lyt0701@aliyun.com

秆体外降解率、产气量、VFA 产量，可作为改善低质粗饲料饲用价值的方法加以推广利用。

关键词：厌氧碱化处理；鲜麦秸；营养成分；超微结构；体外产气；降解率

中图分类号：S816.5　　　文献标识码：　　　文章编号：

秸秆是我国重要的粗饲料资源，但由于其纤维木质化程度高、粗蛋白质（CP）含量低、养分消化率低、适口性较差等原因，直接饲喂效果较差。通过适当处理可提高秸秆降解率，增加其 20%的能量利用率，对于缓解优质粗饲料紧缺的现状具有重要意义[1-2]。秸秆碱化处理可使纤维内部的氢键结合减弱，酯键或醚键被破坏，纤维分子膨胀，溶解半纤维素（HCEL）和部分木质素，易于反刍动物瘤胃液的渗入及瘤胃微生物发挥作用，从而改善秸秆的适口性，提高采食量及消化率[3]。在秸秆中添加尿素不仅可以起到碱化处理秸秆的目的，而且尿素分解释放的氨与秸秆有机物发生反应生成铵盐，还可有效提高秸秆的 CP 含量[4]，但尿素碱性较弱，对纤维类物质的处理效果不及强碱类物质[5]。碱化和氨化复合处理效果往往比单一处理效果好。碳酸氢钠作为一种常用的饲料缓冲剂，溶于水后呈弱碱性，在反刍动物饲粮中添加碳酸氢钠可提高动物采食量，改善瘤胃内环境，增强纤维素、HCEL、糖类在内的碳水化合物的降解、消化和吸收[6]。因此，本试验研究了不同碱性物质厌氧发酵处理对鲜麦秸营养成分和超微结构的影响，利用体外产气法测定了麦秸体外降解率、产气量、瘤胃培养液 pH 及氨态氮、挥发性脂肪（VFA）产量等指标，研究了不同厌氧碱化处理鲜麦秸对崂山奶山羊体外发酵的影响，旨在筛选低质粗饲料的适宜处理方法，提高粗饲料的利用价值。

1 材料与方法

1.1 厌氧碱化麦秸的制备

试验选用刚收获籽粒的新鲜小麦秸秆，切短至 3~5 cm，分别加入秸秆干物质（DM）重量的 2.5%碳酸氢钠(碳酸氢钠组)、4%尿素（尿素组）、2.5%碳酸氢钠+4%尿素（复合组），充分混合均匀后，喷雾补充水分使其含水量为 30%左右，压实后密封于干净无菌的 1 L 塑料桶中，每个处理设 3 个重复，室温下（约 25 ℃）贮存 40 d 后分别取部分秸秆于－20 ℃冷冻保存，待观察超微结构，剩余秸秆 65 ℃烘干制成风干样，待测营养成分及用作

体外发酵底物。试验用尿素为分析纯，含氮量≥46%，购自阳煤集团烟台巨力化肥有限公司；试验用碳酸氢钠为食用小苏打，购自青岛碱业发展有限公司，纯度≥99%。处理前鲜麦秸营养成分见表 1。

表 1 鲜麦秸营养成分（干物质基础）

Table 1 Nutrient compositions of fresh wheat straw (DM basis) %

项目 Item	水分 Moisture	粗蛋白质 CP	中性洗涤纤维 NDF	酸性洗涤纤维 ADF	酸性洗涤纤维木质素 ADL	半纤维素 HCEL	纤维素 CEL	粗灰分 Ash	钙 Ca	磷 P
鲜麦秸 Fresh wheat straw	20.07	4.62	71.78	43.80	6.02	27.98	35.96	10.51	0.30	0.10

1.2 试验动物

选择体重(58.15±1.66) kg、安装永久性瘤胃瘘管的 2 周岁健康崂山奶山羊公羊 3 只，基础饲粮组成及营养水平见表 2，分别于每天 06：00、11：30、18：00 准时饲喂，自由采食，提供充足洁净饮水。

表 2 基础饲粮组成及营养水平(干物质基础)

Table 2 Composition and nutrient levels of the basal diet (DM basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
全株青贮玉米 Whole-plant maize silage	40.00
花生秧 Peanut vine	21.00
玉米 Corn	20.00
豆粕 Soybean meal	14.00
麦麸 Wheat bran	3.25
食盐 NaCl	0.30
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.30
石粉 Limestone	0.15
预混料 Premix1)	1.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrition levels2)	
粗蛋白质 CP	14.99
消化能 DE/(MJ/kg)	8.14
中性洗涤纤维 NDF	44.26

酸性洗涤纤维 ADF	21.87
钙 Ca	0.73
磷 P	0.35

1)预混料为每千克饲粮 Premix provided the following per kg of the diet: VA 17 500 IU, VE 43 mg，VD_3 3 500 IU, VB_5 25.74 mg, Mn (as manganese sulfate) 31 mg, Zn (as zinc sulfate) 92.5 mg, Cu (as copper sulfate) 30 mg, Co (as cobaltous sulfate) 0.72 mg, I (as potassium iodide) 1.25 mg, Se (as sodium selenite) 1.00 mg。

2)消化能为计算值，将配方中原料的消化能[7]分别与其所占的百分比相乘，然后相加；其余营养水平为实测值。DE was a calculated value, which was the sum of DE[7] of different ingredients multiplied by their percentages in diet; while the other nutrient levels were measured values.

1.3 扫描电镜分析

选取有代表性的茎，每个组分别用刀片切割为 0.3 cm×0.1 cm 的横断面、外表面、内表面样本，经过一系列前处理[8]后，用导电胶固定在铜台上，JFC-1600 溅射仪喷金 4 次，用 JSM-7500F 扫描电子显微镜（scanning electron microscopy,SEM）观察。

1.4 瘤胃发酵培养液的制备

瘤胃发酵培养液参考 Menke 等[9]方法制备。3 只试验羊于晨饲后 2 h 采集瘤胃液，4 层纱布过滤后混合均匀，立即放入通有二氧化碳（CO_2）的保温瓶中转移到 39 ℃恒温培养箱中，人工缓冲液由 400 mL 蒸馏水、200 mL 矿物质溶液、200 mL 缓冲液、0.1 mL 微量元素溶液、1 mL 刃天青（0.1%）、40 mL 还原液（现配现用）组成，用 CO_2 调 pH 为 6.8~7.0。将瘤胃液与人工缓冲液按 1∶2 比例混合均匀，待用。

1.5 体外培养产气量和瘤胃发酵参数的测定

准确称取 300 mg 样品放入 4.0 cm×1.5 cm 的 400 目尼龙袋中，密封、标记后送入 100 mL 玻璃注射器中，在注射器中间 1/3 部位均匀涂抹适量医用凡士林，39 ℃预热，然后迅速向每个注射器中加入 30 mL 新鲜人工瘤胃培养液，记录初始刻度值，每组 6 个重复，同时做 3 个未加底物的空白对照，加液完成后立即转入 39 ℃恒温培养箱中培养，并与 2、4、8、12、24、36、48 h 记录注射器准确产气刻度值，48 h 后迅速取出注射器，冰浴，分别取出尼龙袋，用水洗涤至无异味，65 ℃烘干，用于测定干物质降解率（DMD）、中性洗涤纤维降解率(NDFD)、酸性洗涤纤维降解率（ADFD）；将培养液倒入 50 mL 的离心管中，

测定 pH，然后将培养液于 3 556×g 离心 20 min 后取上清液－20 ℃保存待测氨态氮（NH_3-N）、VFA 产量。pH 使用 OHAUS pH 计测定；NH_3-N 产量采用 FOSS 全自动凯氏定氮仪测定；VFA 产量采用 Agilent 6890N 气相色谱仪测定，色谱柱：FFAP(30 m×0.32 mm×0.25 μm)，进样口温度：250 ℃，检测口温度：250 ℃，柱温箱参数为程序升温 60 ℃ 5 min，10 ℃/min 升温至 180 ℃，5 min，氮气（N_2）载气流速为：1.9 mL/min，分流比：2∶1，进样量：1 μL。

1.6 测定指标及计算方法

按 GB/T 6435-2006 测定水分含量后，进一步计算 DM 含量；CP 含量按 GB/T 6432-1994 测定；粗灰分（Ash）含量按 GB 6438-2007 测定；中性洗涤纤维（NDF）、酸性洗涤纤维（ADF）含量采用范氏（Van Soest）分析法[10]，使用美国 ANKOM A200i 全自动纤维分析仪进行测定；HCEL 含量按以下公式计算：

HCEL（%）=NDF（%）−ADF（%）。

产气量、营养成分降解率、总挥发性脂肪酸（TVFA）产量按以下公式计算：

产气量（mL/g）=[该时间段内累积产气量（mL）−对应时间段空白平均产气量（mL）]/样品质量(g)；

某营养成分降解率(%)=100×[瘤胃液作用前某养分含量（g）一瘤胃液作用后某养分含量（g）]/瘤胃液作用前某养分含量（g）；

TVFA（mmol/L)=乙酸(mmol/L)+丙酸(mmol/L)+丁酸(mmol/L)。

1.7 数据统计与分析

试验数据采用 Excel 2010 初步处理，使用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析，Duncan 氏法多重比较检验组间差异显著性，试验数据以平均值±标准误表示，以 P<0.05 和 P<0.01 作为差异显著和极显著标准。

2 结果与分析

2.1 不同厌氧碱化处理对麦秸营养成分含量的影响

由表 3 可知，在 CP 含量方面，尿素组和复合组极显著高于碳酸氢钠组（P<0.01），分别提高了 87.84%和 107.80%；复合组极显著高于尿素组（P<0.01），提高了 10.62%。在

NDF 含量方面，复合组极显著低于碳酸氢钠组（P<0.01），降低了 3.02%；尿素组显著低于碳酸氢钠组（P<0.05），复合组与尿素组之间差异不显著（P>0.05）。在 HCEL 含量方面，尿素组与复合组极显著低于碳酸氢钠组（P<0.01），分别降低了 5.50%和 8.14%；复合组与尿素组之间差异不显著（P>0.05）。3 个组之间 ADF 含量差异不显著（P>0.05）。在 Ash 含量方面，复合组与碳酸氢钠组极显著高于尿素组（P<0.01），复合组显著高于碳酸氢钠组（P<0.05）。

表 3 不同厌氧碱化处理对麦秸营养成分含量的影响（干物质基础）

Table 3 Effects of different anaerobic alkalization treatments on nutrient contents of wheat straw (DM basis) %

项目 Items	碳酸氢钠组 Sodium bicarbonate group	尿素组 Urea group	复合组 Compound group
粗蛋白质 CP	4.36 ± 0.06^{Cc}	8.19 ± 0.13^{Bb}	9.06 ± 0.19^{Aa}
中性洗涤纤维 NDF	71.18 ± 0.50^{Aa}	70.14 ± 0.38^{ABb}	69.03 ± 0.51^{Bb}
酸性洗涤纤维 ADF	43.55 ± 0.32	44.03 ± 0.32	43.65 ± 0.31
半纤维素 HCEL	27.63 ± 0.23^{Aa}	26.11 ± 0.29^{Bb}	25.38 ± 0.27^{Bb}
粗灰分 Ash	11.70 ± 0.06^{Ab}	10.96 ± 0.06^{Bc}	12.13 ± 0.14^{Aa}

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（P<0.05），不同大写字母表示差异极显著（P<0.01），相同或无字母表示差异不显著（P>0.05）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), and with different capital letter superscripts mean significant difference (P<0.01), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05). The same as below.

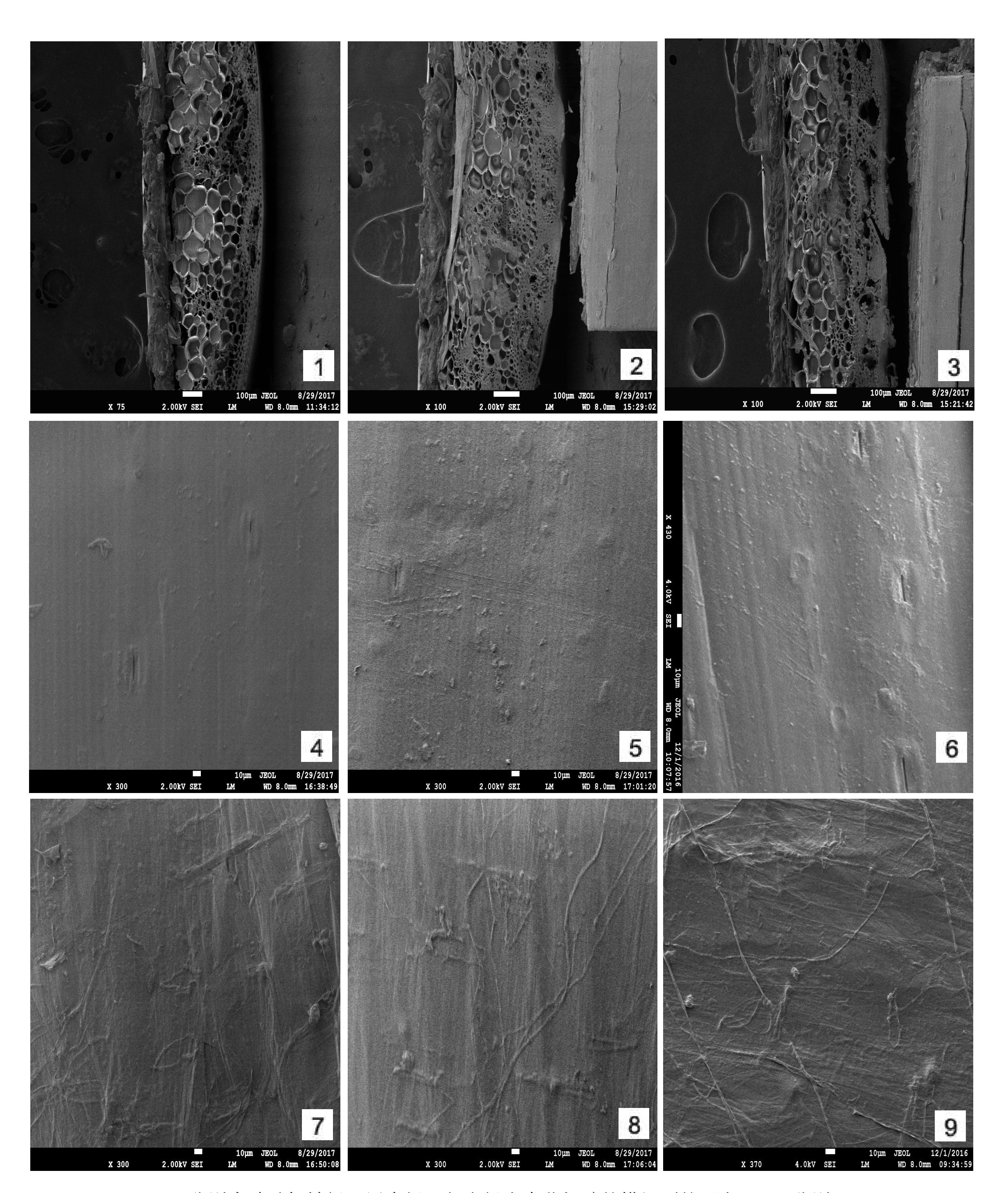
2.2 不同厌氧碱化处理对麦秸超显微结构的影响

图 1 为不同厌氧碱化处理的麦秸在扫描电镜下的超微结构。麦秸的结构从横切面上看由表皮、基本组织和维管束 3 部分构成。

表皮细胞只有 1 层，细胞排列紧密，外侧由角质膜覆盖（图 1-4、图 1-5、图 1-6），表皮细胞由长细胞和短细胞构成，短细胞包括细胞壁木栓化的栓质细胞和含有二氧化硅的硅质细胞，表皮上分布有由 2 个哑铃形保卫细胞和 2 个半圆形的副卫细胞构成的气孔器。麦秸茎壁内表面是幼期髓薄壁细胞解体时形成的膜质结构（图 1-7、图 1-8、图 1-9）。试

验中，麦秸经不同碱化处理后表皮与内表面结构基本完整，角质膜未出现明显破损，其中，碳酸氢钠组外表面较为光滑，尿素组和复合组外表面粗糙，有起伏。

麦秸表皮细胞的内侧有 4~5 层厚壁细胞，为机械组织，对麦秸具有机械支持作用；靠近麦秸内表面的细胞为薄壁细胞，在小麦生长发育的后期细胞壁都有加厚，麦秸茎壁中有 2 轮维管束，内轮较大，在薄壁组织中（大维管束），外轮较小，在厚壁组织中（小维管束）。麦秸经不同碱化处理后，在形态上薄壁细胞出现扭曲、变形，厚壁细胞基本会向外压扁（图 1-1、图 1-2），在小维管束两侧较大的厚壁细胞壁常呈解体状（图 1-3），大小维管束变化不大，不同碱化处理对麦秸横断面的侵蚀程度基本表现为碳酸氢钠组<尿素组<复合组，从处理前后薄壁细胞和厚壁细胞细胞壁厚度的变化来看，除较小的厚壁细胞其细胞壁基本没有什么变化，不同碱化处理的麦秸薄壁细胞和较大的厚壁细胞都有变薄的趋势。



1~3 分别为碳酸氢钠组、尿素组、复合组小麦茎杆壁的横切面的形态；4~6 分别为碳酸氢钠组、尿素组、复合组小麦茎杆壁的外表面的形态；7~9 分别为碳酸氢钠组、尿素组、复合组小麦茎杆壁的内表面的形态。

1 to 3 were the shapes of transverse section of stem wall of wheat of sodium bicarbonate, urea and compound groups, respectively; 4 to 6 were the shapes of outside surface of stem wall of wheat of sodium bicarbonate, urea and compound groups,

respectively; 7 to 9 were the shapes of inside surface of stem wall of wheat of sodium bicarbonate, urea and compound groups, respectively.

图 1 不同厌氧碱化处理对麦秸超显微结构的影响

Fig.1 Effects of different anaerobic alkalization treatments on ultrastructure of wheat straw

2.3 不同厌氧碱化处理对麦秸营养物质体外降解率的影响

由表 4 可知，在 DMD 方面，复合组极显著高于碳酸氢钠组（P<0.01），提高了 20.79%；与尿素组差异不显著(P>0.05)；尿素组显著高于碳酸氢钠组（P<0.05），提高了 10.88%。在 NDFD 和 ADFD 方面，复合组均显著高于碳酸氢钠组（P<0.05），与尿素组差异不显著(P>0.05)；尿素组与碳酸氢钠组之间差异不显著(P>0.05)。

表 4 不同厌氧碱化处理对麦秸营养物质体外降解率的影响

Table 4 Effects of different anaerobic alkalization treatments on nutrient degradation rate *in vitro* of wheat straw %

项目 Items	碳酸氢钠组 Sodium bicarbonate group	尿素组 Urea group	复合组 Compound group
干物质降解率 DMD	38.96±1.37^{Bb}	43.20±0.17^{ABa}	47.06±1.49^{Aa}
中性洗涤纤维降解率 NDFD	27.36±1.84^{b}	31.37±0.33^{ab}	33.23±0.78^{a}
酸性洗涤纤维降解率 ADFD	27.09±1.47^{b}	29.73±0.27^{ab}	31.28±1.06^{a}

2.4 不同厌氧碱化处理麦秸对体外发酵参数的影响

由表 5 可知，除 8 h 时间点以外，各时间点体外产气量均是复合组最大，尿素组次之，碳酸氢钠组最小，3 组在 2、4 h 时体外产气量差异不显著（P>0.05），6、8 h 时复合组体外产气量显著或极显著高于尿素组和碳酸氢钠组（P<0.05 或 P<0.01）；48 h 时复合组和尿素组的体外产气量显著高于碳酸氢钠组（P<0.05），复合组和尿素组之间的体外产气量差异不显著（P>0.05）。

碳酸氢钠组、尿素组和复合组之间 pH 差异不显著(P>0.05)。在 NH_3-N 产量方面，复合组显著低于碳酸氢钠组和尿素组(P<0.05)。在 VFA 产量方面，复合组乙酸产量显著高于尿素组(P<0.05)，极显著高于碳酸氢钠组(P<0.01)，分别提高 11.74%、22.68%；尿素组与碳

酸氢钠组之间差异不显著(P>0.05)；复合组和尿素组丙酸产量显著高于碳酸氢钠组(P<0.05)，复合组与尿素组之间差异不显著(P>0.05)；复合组丁酸产量极显著高于碳酸氢钠组(P<0.01)，与尿素组差异不显著(P>0.05)。在 TVFA 产量方面，复合组极显著高于碳酸氢钠组(P<0.01)，尿素组显著高于碳酸氢钠组(P<0.05)，分别提高了 26.69%、15.71%，复合组与尿素组之间差异不显著(P>0.05)。3 组之间乙酸/丙酸差异不显著(P>0.05)。

表 5　不同厌氧碱化处理对麦秸体外发酵参数的影响

Table 5 Effects of different anaerobic alkalization treatments on fermentation parameters *in vitro* of wheat straw

项目 Items	碳酸氢钠组 Sodium bicarbonate group	尿素组 Urea group	复合组 Compound group
产气量 GP/(mL/g)			
2 h	6.35±0.32	6.13±0.11	9.56±1.78
4 h	9.51±1.78	13.78±0.80	13.88±2.32
6 h	12.69±1.82^{Bb}	13.78±0.80^{Bb}	21.31±1.46^{Aa}
8 h	18.03±1.67^{ABb}	16.84±0.79^{Bb}	25.52±1.87^{Aa}
12 h	24.37±3.10^{b}	29.11±0.81^{ab}	33.88±1.85^{a}
24 h	44.58±4.63^{Bb}	59.76±1.08^{ABab}	67.76±3.71^{Aa}
36 h	68.80±5.78^{Bb}	87.34±1.48^{ABab}	93.21±4.43^{Aa}
48 h	81.64±9.24^{b}	104.22±1.93^{a}	109.17±3.98^{a}
pH	6.86±0.01	6.87±0.01	6.85±0.03
氨态氮 NH_3-N/(mg/dL)	7.10±0.53^{a}	7.15±0.04^{a}	5.78±0.17^{b}
乙酸 Acetate/(mmol/L)	22.66±0.38^{Bb}	24.88±0.73^{ABb}	27.80±0.90^{Aa}
丙酸 Propionate/(mmol/L)	9.74±0.77^{b}	12.46±0.27^{a}	12.88±0.88^{a}
丁酸 Butyrate/(mmol/L)	7.31±0.13^{Bb}	8.61±0.48^{ABab}	9.64±0.39^{Aa}
总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	39.71±0.81^{Bb}	45.95±1.49^{ABa}	50.32±2.16^{Aa}
乙酸/丙酸 Acetate/propionate	2.35±0.19	2.00±0.02	2.17±0.09

3 讨 论

3.1 不同厌氧碱化处理对麦秸营养物质含量的影响

CP 是评价反刍动物饲粮蛋白质营养的重要指标之一。试验中，尿素组小麦秸秆 CP 含量明显提高，复合组比尿素组提高了 10.62%，经尿素处理之后，麦秸中木质素与纤维素、HCEL 间的酯键被打断，镶嵌结构被破坏，细胞壁纤维性物质在吸附作用下与尿素等大分子有机物结合，提高了麦秸 CP 含量[11]，碳酸氢钠的添加提高了 pH，增强了秸秆对尿素的吸附性，提高了氮在麦秸中的保留率。闫贵龙等[12]用 2%尿素分别与 2%、4%、6%、8%、10%的氢氧化钙组合处理麦秸，复合处理后的麦秸 CP 含量均显著或极显著高于未处理麦

秸，秸秆中氮的保留率随着氢氧化钙剂量的增加而提高。NDF 是秸秆细胞壁成分，经中性洗涤后，秸秆细胞的内容物（CP、可溶性糖等）溶解，细胞壁成分不受破坏而完整地存在于 NDF 中，NDF 为纤维素、HCEL 和木质素的总和。试验中，NDF、HCEL 含量以复合组最低，其次为尿素组、碳酸氢钠组，原因可能是尿素添加后分解为氨溶于水后呈弱碱性，加入弱碱性的碳酸氢钠后比单独加尿素处理效果有所提高，溶解了 HCEL。HCEL 是一大类能够用碱液收取出来的各种聚糖物质[13], NDF 中的 HCEL 不稳定，溶于碱液生成了戊糖、已糖[14]，HCEL 含量的降低导致了 NDF 含量的降低。经酸性洗涤剂处理后，秸秆的细胞内容物和 HCEL 被溶解所剩部分为 ADF, 其包括纤维素和木质素。试验中，3 种厌氧碱化处理对 ADF 的含量的影响差异不显著。吕贞龙等[15]、鲁琳等[16]分别用尿素及尿素+氢氧化钙处理麦秸，处理后 ADF 含量较对照组均未见降低，此报道与本试验结果基本一致。

3.2 不同厌氧碱化处理对麦秸超显微结构的影响

小麦秸秆的结构由表皮组织、维管束及基本组织构成。表皮细胞外壁不仅角质化，而且高度硅化，刘丹[8]采用 4%氢氧化钠（NaOH）、5%尿素、10%碳酸氢铵（NH_4HCO_3）处理稻草，在扫描电镜下发现 3 个组稻草茎表皮层的组织结构均无明显变形和脱落现象，Shen 等[17]研究认为，尿素可以溶解秸秆茎和叶片表面的少部分角质蜡硅层。本试验中，3 组的麦秸表皮与髓腔内表面均保留完整，尿素组与复合组表皮较为粗糙，原因可能是尿素溶解了麦秸角质蜡硅层和短细胞中的部分硅酸盐，并沉积于茎秆表面呈起伏状。3 组麦秸薄壁组织扭曲和变形，厚壁细胞均有压扁、部分解体、细胞壁均有变薄的趋势，分析原因可能是在碱性的条件下，HCEL 与木质素之间的酯键或醚键发生断裂，使 HCEL 水解。室温下碱可以水解酯键（1 mol/L NaOH，25 ℃），提高碱液浓度，升高温度（4 mol/L NaOH，170 ℃）可以水解醚键[18]，刘培剑等[19]研究发现，2.5%碳酸氢钠、4%尿素、2.5%碳酸氢钠+4%尿素处理麦秸 10 d 后，pH 分别为 6.74、8.47、8.66，复合组碱性最强，碳酸氢钠组碱性最弱，进一步证实了扫描电镜下观察的复合组对麦秸结构的破坏程度大于尿素组，碳酸氢钠组最差。秸秆细胞壁厚度变薄，原因还可能是碱性物质破坏了木质素与结构性多糖，以及木质素单体之间的连接，导致了细胞壁各层木质素组分不同程度的下降，细胞壁变薄[20]。细胞壁中纤维聚合物（纤维素、HCEL、木质素、部分蛋白质）与乙酰基和酚酸化合

物共同构成的三维立体结构发生破坏后，细胞的机械支持能力就会降低。值得注意的是,秸秆中薄壁细胞较薄，原理上更易于受到碱性物质的影响，但试验中不同碱华处理后薄壁细胞仅出现扭曲和变形，而厚壁细胞出现压扁，甚至在小维管束两侧出现部分解体，原因可能是麦秸呈中空的圆柱状，喷洒的碱液从表皮侵蚀秸秆，碱液通过高度角质化、硅质化的表皮，溶解了部分硅盐，进入秸秆内部后作用于外侧的厚壁细胞与维管束，维管束较难被降解，厚壁细胞的次生壁高度木质化，碱液可断裂 HCEL 与木质素的连接，降低木质素，从而使厚壁细胞壁解体，碱液通过紧密排列的厚壁细胞后，含量变少，浓度降低，当碱液进一步作用于内侧的薄壁细胞时，仅能使其变形，而非完全解体。

3.3 不同厌氧碱化处理对麦秸体外降解率的影响

粗饲料 DMD 可反映其在动物体内消化的难易程度，是影响干物质采食量的重要因素[21]。NDFD 和 ADFD 可较准确的反映饲料中纤维的可利用程度，是评价反刍动物粗饲料营养价值的重要指标。研究表明，粗饲料体外 DMD 与 NDF 含量呈极显著的负相关，与 CP 含量呈显著正相关[22]，饲料体外 NDFD 与 NDF 含量呈显著负相关[23]。麦秸纤维类物质含量较高, 碱化和氨化复合处理不仅可以破坏木质素与 HCEL 之间的酯键，降低 HCEL 和 NDF 含量，还可以显著提高 CP 含量。反刍动物可利用瘤胃液中的细菌、真菌及原虫等分泌的纤维素酶来分解利用饲料中的纤维类物质[24]。秸秆经尿素处理后纤维结构蓬松、空隙增多，吸附酶的表面积增大，有助于纤维素酶的酶解[25]。贺永惠[26]采用 4%尿素+4%氢氧化钙复合处理玉米秸可显著提高秸秆降解率，体内瘤胃尼龙袋 48 h 的 DMD、NDFD 及 ADFD 分别比未处理秸秆提高了 45.54%、50.56%、36.81%。王佳堃等[27]研究还发现，化学处理秸秆的总硅含量随着碱化或氨化剂量的增加呈极显著线性下降，总硅与稻草 DMD 间存在极显著负相关（r=－0.560）。孙国强等[28]研究了尿素和氢氧化钙添加比例均为 2%、3%、4%的不同处理组合对麦秸干物质及纤维瘤胃降解率的影响，随着尿素、氢氧化钙添加比例的增加，麦秸 72 h 的 DMD、NDFD 及 ADFD 基本呈现上升的趋势，当 4%尿素+2%氢氧化钙的最优组合时麦秸 DMD、NDFD 及 ADFD 分别比未处理秸秆提高了 90.98%、92.06%、139.38%。本试验中，NDF 含量为复合组<尿素组<碳酸氢钠组，CP 含量为复合组>尿素组>碳酸氢钠组，麦秸营养物质降解率表现为：复合组>尿素组>碳酸氢钠组，复合

组 48 h 的 DMD、NDFD 及 ADFD 比碳酸氢钠组分别提高了 20.79%、21.45%及 15.47%，比尿素组分别提高了 8.94%、5.93%及 5.21%。尿素和碳酸氢钠复合处理鲜麦秸效果优于单独处理，较大程度上提高了秸秆的营养价值，此结果与徐清华等[29]的报道基本一致。

3.4 不同厌氧碱化处理对麦秸瘤胃体外发酵产气量及发酵参数的影响

体外瘤胃发酵试验中产气量、VFA、pH 及 NH_3-N 气量是反映饲粮体外发酵效果的重要指标。产气量主要是饲粮在瘤胃微生物的作用下产生的甲烷和二氧化碳，产气量可反映饲粮能量水平，研究证明体外产气量与营养物质的消化率呈正相关[30-31]。VFA 是反刍动物能量利用的主要形式，主要包括乙酸、丙酸和丁酸，这 3 种酸约占瘤胃发酵挥发性脂肪酸总产量的 95%。VFA 与反刍动物的能量代谢有直接关系，TVFA 气量的提高表明底物消化率的上升。pH 受到 VFA 及一些代谢产物影响，瘤胃 pH 可反映瘤胃中饲粮的发酵程度，主要受饲粮品质、唾液分泌、瘤胃渗透压、瘤胃内 VFA 的气量等因素的影响[32]。NH_3-N 是由瘤胃氮代谢中外源蛋白质和内源含氮物质降解产生的氨基酸在适宜的 pH 条件下脱氨基产生的，是瘤胃微生物合成微生物蛋白质的重要原料，瘤胃 NH_3-N 气量受饲粮中蛋白质等含氮养分在瘤胃中的降解速度和微生物对 NH_3-N 摄取与利用速度的影响，所以 NH_3-N 气量可反映饲粮中蛋白质降解与合成的平衡关系。试验中，复合组与尿素组 48 h 体外产气量高于碳酸氢钠组，复合组体外产气量高于尿素组，乙酸、丙酸、丁酸及 TVFA 气量也表现为复合组高于尿素组，碳酸氢钠组最低，进一步验证了复合组秸秆营养物质的降解率高于尿素组和碳酸氢钠组，分析原因可能与复合组 NDF 含量的降低有关。饲粮在体外发酵的总产气量及甲烷（CH_4）、二氧化碳（CO_2）、VFA 产量与 NDF 含量呈显著的负相关，与非结构性碳水化合物含量呈显著正相关，秸秆经碱化氨化复合处理后，NDF 含量下降，细胞壁结构疏松，增加了碳源，有利于微生物的发酵，尿素为其提供氮源，使微生物（主要是细菌及原虫）数量增加、活性提高，促进了秸秆 DM 及纤维的降解，碳水化合物降解为 VFA，产生 CH_4、CO_2，增加了体外产气量。赵广永等[33]采用不同水平（0、2%、4%、6%、8%）尿素处理稻草进行体外瘤胃发酵试验，随着尿素水平的增加，碱性逐渐增强，秸秆 NDF 含量降低，体外产气量及 TVFA、乙酸产量显著提高，此研究与本试验结果基本一致。试验中，经尿素和碳酸氢钠复合处理后，小麦秸秆体外发酵液中 NH_3-N 产量并未提

高，而是显著降低，原因可能是麦秸纤维性物质消化率的提高增加了碳源的供给，使菌体蛋白质合成量的增加，促进生成了蛋白质。霍文婕等[34]研究过氧化氢与尿素复合处理小麦秸秆时也有类似发现。乙酸/丙酸是衡量微生物发酵模式的参数，3 个组乙酸/丙酸差异不显著，说明 3 种处理的秸秆没有改变瘤胃发酵模式，均以乙酸发酵为主；另外，试验中 pH 维持在 6.85~6.87 之间，3 个组 pH 差异不显著，纤维素酶均在适宜的 pH 范围（6.5~7.0）内[35]，此结果与历磊[36]研究的用不同添加量碳酸氢钙-尿素复合处理的花生藤经体外模拟瘤胃发酵 72 h 后 pH 均差异不显著的报道基本一致。

4 结 论

① 复合组麦秸 CP 含量比碳酸氢钠组和尿素组分别提高了 107.80%和 10.62%，NDF、HCEL 含量分别降低 3.02%和 1.58%、8.14%和 2.80%。

② 不同厌氧碱化处理对麦秸超微结构的破坏程度表现为复合组>尿素组>碳酸氢钠组，碱液对麦秸组织的侵蚀力度表现为厚壁细胞>薄壁细胞>维管束。

③ 复合组麦秸 48 h 的 DMD、NDFD 及 ADFD 比碳酸氢钠组分别提高了 20.79%、21.45%及 15.47%，比尿素组分别提高了 8.94%、5.93%及 5.21%，复合组体外产气量、VFA 产量显著提高，NH_3-N 产量明显降低，不同厌氧碱化处理的麦秸未改变瘤胃发酵的 pH 和发酵模式。

参考文献：

[1] 张吉鹍,卢德勋,刘建新,等.粗饲料品质评定指数的研究现状及其进展[J]. 草业科学,2004,21(9):55-61.

[2] CHAUDHRY A S,MILLER E L.The effect of sodium hydroxide and alkaline hydrogen peroxide on chemical composition of wheat straw and voluntary intake,growth and digesta kinetics in store lambs[J].Animal Feed Science and Technology,1996,60(1/2):69–86.

[3] 彭远荣.秸秆饲料碱化处理技术[J].中国畜牧兽医文摘,2012,28(3):192.

[4] 曹春梅,闫贵龙,薛素琴.提高氨化处理秸秆粗蛋白含量的适宜方法研究[J].草业科学,2005,22(12):67–70.

[5] ZORRILLARIOS J,OWENS F N,HORN G W,et al.Effect of ammoniation of wheat straw on performance and digestion kinetics in cattle[J].PLoS One,1985,8(12):16.

[6] 刘培剑,林英庭.碳酸氢钠在反刍动物生产中的应用和研究[J].中国饲料,2016(14):10–14.

[7] 任相全,毛一鹏.山东配合饲料资源应用商务章典[M].济南:山东人民出版社,2012.

[8] 刘丹.化学处理对稻草超微结构和瘤胃微生物活力的影响[D].硕士学位论文.杭州:浙江大学,2004.36.

[9] MENKE K.Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid[J].Animal Research and Development,1988,28(1):7–55.

[10] VAN SOEST P J,ROBERTSON J B,LEWIS B A.Methods for dietary fiber,neutral detergent fiber,and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J].Journal of Dairy Science,1991,74(10):3583–3597.

[11] 马兴元,马君,刘琪.小麦秸秆的氨化厌氧发酵工艺及影响因素研究[J].农业环境科学学报,2012,31(11):2265–2271.

[12] 闫贵龙,孟庆翔,曹春梅.氢氧化钙与2%尿素复合处理提高小麦秸营养价值的研究[J].中国畜牧杂志,2007,43(9):51–53.

[13] 姚穆,孙润军,陈美玉,等.植物纤维素、木质素、半纤维素等的开发和利用[J].精细化工,2009,26(10):937–941.

[14] 刘凯玉,张永根,辛杭书,等.不同处理水稻秸秆营养成分及其瘤胃降解特性研究[J].中国畜牧杂志,2014,50(7):57－61,101.

[15] 吕贞龙,陈后庆,尹召华,等.小麦秸秆氨化中尿素氮水平对其品质的影响[J].饲料工业,2007,28(23):26–28.

[16] 鲁琳,张栓洋,孟庆翔,等.补氮碱化处理提高小麦秸营养价值的研究[J].中国奶牛,2006(4):11–15.

[17] SHEN H S,SUNDSTØL K,ENG E R,et al.Studies on untreated and urea-treated rice straw from three cultivation seasons:3.Histological investigations by light and scanning electron microscopy[J].Animal Feed Science and Technology,1999,80(2):151–159.

[18] SUN R C,LAWTHER J M,BANKS W B.A tentative chemical structure of wheat straw lignin.[J].Industrial Crops and Products,1997,6(1):1–8.

[19] 刘培剑,朱风华,葛蔚,等.不同厌氧碱化处理方法对鲜麦秸感官指标及营养成分的影响[J].中国畜牧杂志,2017,54(1):77–78.

[20] 王佳堃,朱素丽,刘建新,等.预处理改变稻草亚细胞结构的化学基础[J].浙江大学学报（理学版）,2006,33(4):424–428.

[21] 李茂,字学娟,白昌军,等.不同生长高度王草瘤胃降解特性研究[J].畜牧兽医学报,2015,46(10):1806–1815.

[22] 邓卫东,席冬梅,毛华明.云南省反刍家畜主要饲料营养价值评价[J].黄牛杂志,2002,28(1):23–27.

[23] 刘洁,刁其玉,赵一广,等.肉用绵羊饲料养分消化率和有效能预测模型的研究[J].畜牧兽医学报,2012,43(8):1230–1238.

[24] 张洁,陈旭伟,徐爱秋,等.瘤胃微生物对饲料碳水化合物的消化代谢[J].中国奶牛,2008(2):17–20.

[25] 杨游.稻草秸秆氨化的机理研究及参数优化[D].硕士学位论文.重庆:西南农业学,2004:33－39.

[26] 贺永惠.北方地区玉米秸秆复合碱化和快速氨化技术及其在幼羊生长中应用的研究[D].硕士学位论文.哈尔滨:东北农业大学,2001:2.

[27] 王佳堃,叶丹妮,李文婷,等.化学预处理对稻草硅化程度的影响及其对瘤胃降解率的改善效果[J].动物营养学报,2008,20(2):170–175.

[28] 孙国强,吕永艳,崔海净,等.复合化学处理对麦秸干物质和纤维瘤胃降解率的影响[J].浙江农业学报,2012,24(2):228–231.

[29] 徐清华,张文举,赵新伟,等.复合化学处理麦秸的效果研究[J].黑龙江畜牧兽医,2014(17):17–20.

[30] MENKE K H,RAAB L,SALEWSKI A,et al.The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*[J].The Journal of Agriculture Science,1979,93(1):217–222.

[31] BLÜMMEL M,MAKKAR H P S,BECKER K.*In vitro* gas production:a technique revisited[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2015,7(1/2/3/4/5):24–34.

[32] 赵广永,冯仰廉.绵羊瘤胃渗透压与挥发性脂肪酸、氨态氮或 pH 值的相关研究[C]//中国畜牧兽医学会动物营养学分会第六届全国会员代表大会暨第八届学术研讨会论文集(下).哈尔滨:中国畜牧兽医学会,2000:555–559.

[33] 赵广永,李兵.氨化处理对稻草体外瘤胃发酵甲烷、二氧化碳和挥发性脂肪酸产量的影响[J].动物营养学报,2013,25(8):1769–1774.

[34] 霍文婕,郭刚,原现军,等.过氧化氢和尿素对小麦秸秆体外发酵特性及甲烷产量的影响[J].山西农业大学学报（自然科学版）,2016,36(7):457–460,466.

[35] 卢德勋.反刍动物营养调控理论及应用[M].内蒙古:内蒙古畜牧科学,1993.

[36] 历磊.提高花生藤营养价值的调制技术研究[D].硕士学位论文.武汉:华中农业大学,2012.

Effects of Different Anaerobic Alkalization Treatments on Nutrients, Ultrastructure and *in vitro* Fermentation Parameters of Fresh Wheat Straw

LIU Peijian[1] CAO Yufang[1] ZHU Fenghua[1] GE Wei[1] CHENG Ming[2] LIN Yingting[1*]

(1. *College of Animal Science and Technology*, *Qingdao Agricultural University. Qingdao* 266109, *China;* 2. *Institute of Husbandry and Veterinary*, *Qingdao* 266000, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of different anaerobic alkalization treatments on nutrients, ultrastructure and *in vitro* fermentation parameters of fresh wheat straw. The fresh wheat straw was anaerobic treated with 2.5% sodium bicarbonate (sodium bicarbonate group), 4% urea (urea group) and both of the 2.5% sodium bicarbonate and 4% urea (compound group) basis on dry matter weight, respectively, the processing time was 40 days. All samples were subjected to analysis of the nutrition composition and the changes of the ultrastructure under the scanning electron microscopy (SEM). Three male *Laoshan* dairy goats with permanent rumen fistula were used as the donor of rumen fluid, and the *in vitro* degradation

*Corresponding author, professor, E-mail: lyt0701@aliyun.com （责任编辑　武海龙）

rate, gas production and fermentation parameters after 48 h incubation were determined using *in vitro* gas production method. The results showed as follows: 1) the content of crude protein (CP) in compound group was significantly higher than that in sodium bicarbonate group and urea group ($P<0.01$), and the content of CP in urea group was significantly higher than that in sodium bicarbonate group ($P<0.01$). The content of neutral detergent fiber (NDF) in compound group was significantly lower than that in sodium bicarbonate group ($P<0.05$), and was not significantly different from that in urea group ($P>0.05$). The content of hemicellulose (HCEL) in compound group was significantly lower than that in sodium bicarbonate group ($P<0.01$), and was not significantly different from that in urea group ($P>0.05$). There were no significant differences in the content of acid detergent fiber (ADF) among 3 groups ($P>0.05$). 2) Under the SEM, the structure of different anaerobic alkalization treatment of wheat straw were damaged, the degree of damage showed that compound group> urea group>sodium bicarbonate group, the erosion degree of alkali liquor showed that: sclerenchymatous cells>parenchymatous cells>vascular bundle. 3) The dry matter degradation rate (DMD) in compound group was significantly higher than that in sodium bicarbonate group ($P<0.01$), the neutral detergent fiber degradation rate (NDFD) and acid detergent fiber degradation rate (ADFD) in compound group were significantly higher than those in sodium bicarbonate group ($P<0.05$), the DMD, NDFD and ADFD in compound group were higher than those in urea group, but had no significant difference ($P>0.05$). The 48 h *in vitro* gas production and contents of acetic acid, propionic acid, butyric acid and total volatile fatty acid (TVFA) in compound group were significantly higher than those in sodium bicarbonate group ($P<0.01$ or $P<0.05$), the content of acetic acid in compound group was significantly higher than that in urea group ($P<0.05$), the content of ammonia nitrogen in compound group was significantly lower than that in sodium bicarbonate and urea group ($P<0.05$), there were no significant differences in pH, acetic/propionic among three groups ($P>0.05$). It is concluded that the effect of compound anaerobic treated wheat straw with 2.5% sodium bicarbonate and 4% urea is superior to sodium bicarbonate and urea single treatment, increase the CP content of wheat straw, reduce NDF, HCEL contents and improve the *in vitro* degradation rate, gas production and VFA content, so it can be used as an effective method to improve the value of low-quality roughage.

Key words: anaerobic alkalization treatment; fresh wheat straw; nutrients; ultrastructure; *in vitro* gas production; degradation rate